Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY 15 MAR 1939 LIBRARY

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. E. Rodenwaldt.)

Untersuchungen über die Einordnung des Bact. acetylcholini in das System der Bakterien

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Artur Behr

aus Essen

1938

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg.

Der Dekan: Professor Dr. H. Runge
Der Referent: Professor Dr. H. Habs

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit.

I.

Bei Untersuchungen über den Silageprozeß stellte *Keil*[1]) fest, daß die biologische Säuerung von Futtermitteln und Gemüsen durch eine bestimmte Bakterienart verursacht wird, die offenbar überall im Boden, in Futtermitteln, in Gefäßen und Behältern vorkommt. Er machte die bedeutende Feststellung, daß diese Bakterien neben der Eigenschaft, Zucker und andere Kohlehydrate in Milchsäure aufzuspalten, weiterhin die Fähigkeit besitzen, Acetylcholin zu bilden. Der Nachweis des Acetylcholins geschieht in einfacher Weise dadurch, daß man Silagesaft oder mit Bakterienkulturen beimpften Gurkensaft, der nach den Erfahrungen von *Eichholtz, Keil* und Mitarbeitern der geeignetste Nährboden zur Bildung des Acetylcholins ist, auf einen in Thyrodelösung lebenden isolierten Rattendarm einwirken läßt.

Das Bact. acetylcholini wurde von *Keil* und *Weyrauch* stoffwechselphysiologisch eingehend untersucht. *Keil* und *Weyrauch* fanden u. a., daß diese Milchsäurebildner sehr widerstandsfähig sind und noch unter extremen Lebensbedingungen sich vermehren und dabei neben Milchsäure auch Acetylcholin bilden können. Ferner stellten sie fest, daß sie eine Säuerung bis zu einem ph-Wert von 3,0 noch vertragen können, daß sie weiterhin gegen höhere Temperaturen empfindlich und bei 4° nicht mehr vermehrungsfähig sind. Sie vertragen einen Kochsalzzusatz von 12% und wachsen noch bei einem Zuckergehalt von 40%. Weitere Untersuchungen über das stoffwechselphysiologische Verhalten des Bact. acetylcholini werden durch *Ferdinand,* über seine Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel durch *Vollherbst* ausgeführt.

Die Bedeutung dieses Bakteriums für den volkswirtschaftlich so wichtigen Silageprozeß ist von *Eichholtz* und *Brehm*[2]) dargestellt worden.

Aus den Untersuchungen des Pharmakologischen Institutes der Universität Heidelberg war bekannt, daß das morphologische Verhalten dieser Mikroorganismen zwar nach den Kulturbedingungen etwas wechselt, man konnte jedoch annehmen, daß sie zur Gruppe der Streptokokken gehören und möglicherweise Beziehungen zu den Streptokokken des Verdauungstraktus haben. Diese Frage wurde durch *H. Thoma* bearbeitet, dem es gelang, das Bact. acetylcholini aus dem Darmkanal von Ratten, die mit diesen Keimen gefüttert waren, wieder zu züchten und es auch im Darmtraktus der normalen Ratte nachzuweisen. Ferner war es ihm möglich, es aus kariösen Zähnen und Zahnbelägen von Menschen zu isolieren. Nach Prüfung einer kleineren Anzahl von Stämmen auf Aeskulinspaltung, Lackmusmilch und Blutagarplatten stellte Thoma die Acetylcholinbildner in die Nähe der Enterokokken. In weiteren, nicht veröffentlichten Untersuchungen des Pharmakologischen und des Hygienischen Institutes Heidelberg konnten Acetylcholin bildende Bakterien auch im Kot des Menschen mehrfach nachgewiesen werden.

In Fortsetzung dieser Arbeit soll das Ziel der im folgenden geschilderten Untersuchungen sein, an Hand einer größeren Zahl von Acetylcholin bildenden Bakterienstämmen verschiedenster Herkunft festzustellen, ob sich diese auf den in der medizinischen Bakteriologie üblichen Differentialnährböden einheitlich verhalten. Es sollen dann weiter die Merkmale dieser Gruppe im Einzelnen festgelegt werden, ihre Stellung im System der Streptokokken sowie insbesondere ihrer Beziehungen zu den sogenannten Enterokokken erörtert werden.

II.

a) Bevor eine Besprechung dieser Frage möglich ist, erscheint es notwendig, den augenblicklichen Stand der Systematik der Streptokokken kurz zu erörtern.

Obwohl die Streptokokken sicherlich zu den häufigsten Infektionserregern gehören, ist es bisher trotz der vielen Versuche, die sich mit der Typentrennung der Streptokokken beschäftigen, nicht gelungen, ein eindeutiges und allgemein anerkanntes System innerhalb dieser

Gruppe zu entwickeln. Immer wieder erhebt sich die Frage, inwieweit es sich bei den aufgestellten Typen um Arteinheit oder Artverschiedenheit handelt, insbesondere deshalb, weil schon lange die erheblichen Variationserscheinungen bekannt und Übergänge und Umwandlungen ein und derselben Art innerhalb der Streptokokkengruppe beobachtet sind. Dennoch sind eingehende Untersuchungen über Aufstellung bezw. Erfassung von einzelnen Typen angezeigt, als damit die Frage der Pathogenität, über die die Meinungen der einzelnen Autoren ebenfalls sehr auseinandergehen, in Zusammenhang steht.

Wesentlich gefördert wurde die Frage der Differenzierung der Streptokokken, als 1903 *Schottmüller* nach dem Wachstum auf der Blutplatte einen Str. hämolyticus (pyogenes), einen Str. mucosus und einen Str. viridans unterschied. Der Str. hämolyticus erwies sich in der Folgezeit als ein gut charakterisierter, anscheinend recht einheitlicher Typ. Untersuchungen über den Str. viridans, den *Schottmüller* eigentlich nur für den Erreger der Endocarditis lenta vorbehielt, zeigten bald, daß es sich keineswegs um eine einheitliche Gruppe handelte.

Es mußten daher Methoden zur weiteren Differenzierung gesucht werden. Die Engländer *Andrewes* und *Horder*[3]) teilten 1906 die Streptokokken nach dem Vergärungsvermögen verschiedener Kohlehydrate und dem Verhalten auf der Blutplatte in 7 große Gruppen und stellten dabei den Begriff des „Typenzentrums" auf, um das die in einem oder mehreren Merkmalen von dem Zentraltyp abweichenden Formen zu stellen seien. Auch dabei zeigten sich Schwierigkeiten. Besonders ein großer Teil der deutschen Bakteriologen stand diesem Bemühen skeptisch gegenüber, da alle möglichen Kombinationen der biochemischen Eigenschaften sich zeigen und somit fließende Übergänge zwischen den Typen bestehen.

Neben mehreren Einteilungsschemen auf deutscher Seite versuchte 1921 *Warren Crowe*[4]) unter neuen Gesichtspunkten der Lösung der Schwierigkeiten näher zu kommen. Er hielt die bisherigen Einteilungsprinzipien für unzureichend, da hierbei zu wenig Variations- und Dissoziationserscheinungen berücksichtigt seien. *Warren Crowe*

versucht, die „Phase", in der sich der Streptococcus bei seiner Isolierung aus dem Organismus befindet, zu erfassen. *Grumbach*[5]), der sich in einer längeren Arbeit eingehend mit Variations- und Dissoziationserscheinungen der Streptokokken befaßt, ergänzt die Methoden *Warren Crowe's* und hält dieses Einteilungssystem für geeignet. Doch sieht *Grumbach* auch hierin nichts Endgültiges, da bei dieser Klassifizierung z. B. die nach seiner Auffassung einheitliche Gruppe der Enterokokken nicht durchweg der gleichen Art zugeteilt werden könne. Ähnliches möge auch für andere Streptokokken-Gruppen zutreffen.

Diese kurzen Erörterungen mögen zeigen, daß die Meinungen der verschiedenen Autoren keineswegs einheitlich sind, und daß viele Fragestellungen noch einer genaueren Klärung bedürfen.

b) Was die Schwierigkeiten einer Systematik der Streptokokken allgemein betrifft, gilt im besonderen für die Gruppe der sogenannten **Enterokokken**, über deren Bedeutung für die Klinik und ihre Biologie die Auffassungen besonders in der deutschen Literatur weitgehend verschieden sind.

Escherisch[6]) beschrieb bereits 1886 in einer Arbeit über die Darmbakterien des Säuglings einen Diplococcus, ohne ihm besondere Bedeutung zuzulegen. 1898 fand er dann bei Säuglingsenteritiden einen ähnlichen Diplococcus. Dieser Keim bildete gelegentlich auch Ketten, war dem Pneumococcus ähnlich, ohne jedoch mit einer Kapsel versehen zu sein. *Escherisch* nannte ihn Micrococcus ovalis. Dem neugefundenen Keim wurde in Deutschland jedoch zunächst keine Bedeutung zugemessen, da man ihm eine pathogene Eigenschaft nicht zusprach.

Anders in der französischen Literatur. *Thiercelin*[7]) hatte 1898 unabhängig von *Escherisch* einen Diplococcus oder kurzkettigen Darm-Streptococcus beschrieben, der offenbar mit dem Micrococcus ovalis identisch war. *Thiercelin* nahm an, daß der gefundene Keim ein Normalbewohner des Darmkanals sei, gelegentlich jedoch pathogen werden und gewisse Enteritiden, möglicherweise auch Gallenaffektionen verursachen könne. Wegen seines Vorkommens im Darm-

kanal wurde er von *Thiercelin* Enterococcus genannt. Seit dieser Zeit wurde der Enterococcus in die französische Literatur aufgenommen, in der seine Pathogenität stets anerkannt worden ist. *Macaigne*[8]) stellt das besondere Krankheitsbild der „Enterococcie" auf. Die Engländer *Andrewes* und *Horder* nennen ihn in ihrem Streptokokken-System Str. faecalis.

In Deutschland wurde erst 1913 durch *Schmitz*[9]) unter Hinweis auf die französische Literatur die Aufmerksamkeit von neuem auf die Enterokokken gelenkt. Allerdings betont dieser Autor, daß die Häufigkeit über das Vorkommen der Enterokokken übertrieben sei. Er habe ihn im normalen Stuhl nie feststellen können. *Schmitz* hebt besonders die Polymorphie der Enterokokken hervor. Seine Stämme zersetzten keinen Zucker, zeigten auf der Blutplatte keine Hämolyse und erwiesen sich im Tierversuch als apathogen.

Houston und *Mc. Cloy*[10]) bestätigen die früheren Angaben über die Enterokokken, finden jedoch im Gegensatz zu *Andrewes* und *Horder* keine Mannitvergärung. Sie heben als erste die Hitzeunempfindlichkeit hervor.

Ein anderes wichtiges Merkmal zur Unterscheidung der Enterokokken fand *Weißenbach*[11]). Der Enterococcus zeigte im Gegensatz zum Str. hämolyticus und Str. viridans in Galle-Peptonwasser üppiges Wachstum.

Rochaix[12]) wies auf eine weitere Eigenschaft hin. Er fand, daß Enterokokken den von *Harrison* und *Vanderleck*[13]) angegebenen Aeskulinnährboden zersetzen, während Str. hämolyticus dies nicht und Str. viridans nur selten tun sollen.

Bevor auf die Ergebnisse deutscher Arbeiten jüngeren Datums eingegangen werden soll, verdienen die Beobachtungen des Engländers *Dible*[14]) hervorgehoben zu werden, der die Enterokokken einer eingehenden Untersuchung unterzog. Nach dem Bericht von *Dible* ist der Enterococcus ein lanzettförmiger Diplococcus, der im Gegensatz zu den Pneumokokken keine Kapseln bildet. Eine ausgesprochene Polymorphie fand er nur in älteren Kulturen. Auf der gewöhnlichen Blutplatte zeigte der Enterococcus keine Vergrünung

und nur ganz selten Hämolyse. Die Kolonien seien rund, scharf begrenzt und bei Beobachtung unter dem Mikroskop fein granuliert. In flüssigen Nährböden bilden die Enterokokken diffuse Trübung mit Bodensatz. Ihre Widerstandsfähigkeit sei groß, sie wüchsen in einer großen ph-Breite und überständen meist eine halbstündige Erhitzung auf 60°. Wenn diese Eigenschaft auch nicht absolut sei, könne sie zur Differenzierung nützlich sein. 70% der von *Dible* untersuchten Stämme spalteten Mannit, 13% Raffinose. Die Ergebnisse der Zuckervergärung wären bei den gewöhnlichen Laboratoriumsnährböden unterschiedlich. Meist waren Mannitvergärung und Thermoresistenz miteinander vergesellschaftet. Lackmusmilch wurde normalerweise entfärbt und zur Gerinnung gebracht, unter Bildung eines rosa Saumes. Doch sei auch die Lackmusmilch-Veränderung nicht konstant. Gelatinenährböden sollen nicht verflüssigt werden. Der Autor beobachtete, daß die Enterokokken in flüssigen Nährböden öfters H_2S bilden. *Dible* hält die Enterokokken für normale Darmbewohner. Tierpathogenität konnte er nicht feststellen. Bezüglich der Menschen-Pathogenität steht der Autor den Angaben der französischen Literatur skeptisch gegenüber, da die Untersuchungen und damaligen Differenzierungsmethoden unzureichend gewesen seien.

In Deutschland war es neben *Schmitz* besonders *Kurt Meyer*[15]), der sich eingehend Enterokokkenstudien widmete und ebenfalls auf die pathogene Bedeutung dieser Mikroorganismen hinwies. Er fand die Enterokokken in einer großen Zahl als Erreger bei Eiterungsprozessen, die mit dem Magen-Darmkanal in Zusammenhang standen, ferner bei Cystitiden und Pyelitiden und besonders häufig bei Infektionen der Gallenwege (44,5% der Fälle mit positivem bakteriologischem Befund), für die er ihnen eine gleiche Bedeutung zumißt wie dem Bact. coli. Er stellte fest, daß die Pathogenität der Enterokokken von äußeren Bedingungen abhängig sei. *K. Meyer* hat sich immer wieder für eine Sonderstellung und scharfe Trennung der Enterokokken von den übrigen Streptokokken eingesetzt. Neben der Galleresistenz spricht er der Spaltung des Glykosids Aeskulin eine ausschlaggebende Rolle für die Differenzierung zu. Auf Grund seiner Untersuchungen zusammen mit H. *Schönfeld*[16]) bezeichnet *Meyer*

in neuester Zeit den Enterococcus „als einen in Diploform oder in Ketten auftretenden grampositiven Coccus, der in Bouillon diffus wächst, auf der Blutplatte grauweiße Kolonien ohne oder mit meist schwacher Vergrünung, mit oder ohne Hämolyse bildet, der thermoresistent und galleunempfindlich ist, Lackmus und andere Farbstoffe unter geeigneten Bedingungen reduziert und eine große Zahl von Kohlehydraten, insbesondere Glykoside (Aeskulin) spaltet"*). Er stellt fest, daß es neben typischen Stämmen auch solche gibt, die nicht alle diese Eigenschaften aufweisen, und die man daher als atypische Formen auffassen kann. Der Raffinosevergärung (23%) wird keine große Bedeutung zugemessen. Ihr Vorhandensein schließt die Enterokokkennatur eines Stammes keineswegs aus. Auch der Mannitvergärung, die *Meyer* in 75% der Fälle fand, wird kein so hoher diagnostischer Wert zugeschrieben wie der Aeskulinspaltung. Thermoresistent waren 70,5% der untersuchten Stämme *(Bagger*[17]) gibt die Zahl der bei 60° resistenten Stämme mit 95% an). Wenn auch hin und wieder eins der für Enterokokken charakteristischen Merkmale fehle, glaubt *Meyer* doch, bei Zusammenfassung mehrerer Merkmale die Enterokokken ohne Schwierigkeiten abgrenzen zu können.

Gundel[18]) teilte ursprünglich die Enterokokken in zwei Typen auf. Neben einem Typ B, der in seinen Eigenschaften eine ziemlich fest umrissene Art darstellt, dem Enterococcus der bisher genannten Autoren entspricht und sich vorwiegend in den unteren Darmabschnitten findet, zählt Gundel einen Typ A zu den Enterokokken, der von den Mundstreptokokken abzuleiten und durch Verschlucken in den oberen Teil des Darmkanals gelangt sei. Dieser zuletzt genannte Typ unterscheidet sich im wesentlichen dadurch vom Typ B, daß er thermolabiler ist und nur gelegentlich Aeskulin spaltet. Nach *Gundel* soll Typ B meist weder Mannit noch Raffinose vergären, während Typ A Mannit meist, Raffinose häufiger spalten soll.

Später teilte *Gundel*[19]) die gesamten Streptokokken in zwei Hauptgruppen auf. Zur Gruppe A, die sich aus stabilen Stämmen zusam-

*) Zeitschrift für Hyg. u. Inf.Krankh., 118. Bd., 2. Heft

mensetzt, gehört Str. pyogenes hämolyticus, Str. viridans und Str. lanceolatus (Pneumococcus). Zur Gruppe B gehören die labilen Stämme der pleomorphen Streptokokken. Hierzu sind zu zählen: 1. Mund-, 2. Darm- (Enterokokken) und 3. Milchstreptokokken. Diese drei Arten treten in je zwei Erscheinungsformen auf, die sich u. a. in ihrem Verhalten auf der Blutplatte unterscheiden. Eine sichere Abgrenzung ist nach *Gundel* zwischen diesen drei Arten nicht zu ziehen. Es seien an sich keine verschiedenen Arten oder Typen. Ihr Vorkommen in den verschiedenen Körperhöhlen und außerhalb des menschlichen Organismus sei vielmehr durch den Kreislauf dieser Keime bedingt. Ihre phylogenetische Entwicklung sei so zu verstehen, daß sie einer gemeinsamen Wurzel entsprängen. Manche von ihnen seien durch längeren Aufenthalt in einer Körperhöhle oder durch Anpassung an ein bestimmtes Gewebe gefestigt. Neben ihnen gäbe es auch viele, die — frisch aus Krankheitsprozessen isoliert — eine ausgesprochene Variabilitätsneigung zeigten und sich derart erst nach längerer Fortzüchtung auf künstlichem Nährboden in die eine oder andere Haupterscheinungsform einordnen ließen. Unter bestimmten Voraussetzungen seien sie in gleicher Weise wie der Str. hämolyticus in der Lage, bei Mensch und Tier Erkrankungen hervorzurufen. In Verfolg dieser Anschauung hat *Gundel* neuerdings den Namen „Enterococcus" völlig aufgegeben.

Ähnlich ist der Standpunkt von *Demeter*[20]), der vergleichend Milchstreptokokken und Darmstreptokokken untersuchte. Dieser Autor kommt zu dem Ergebnis, „daß es keine Eigenschaft gibt, die entweder nur den aus Milch oder nur den aus Fäkalien isolierten Streptokokken allein zukommt." Demzufolge stehe einer Identifizierung des Str. lactis mit den Enterokokken nichts im Wege. Eine Grenze zwischen beiden Gruppen könne nicht gezogen werden. Die sogenannten echten Milchsäurestreptokokken seien nichts anderes als höchstens eine an Milch mehr oder weniger angepaßte Variante der gewöhnlichen Darmstreptokokken, und der Name Str. lactis bezeichne lediglich eine besonders an Milch angepaßte „Standortform" der Fäkalstreptokokken. *Demeter* untersuchte 60 aus Milch isolierte Stämme nach den für Str. lactis angegebenen Merkmalen und 46 aus Fäkalien gezüchtete nach für Enterokokken charakteristischen

Merkmalen. Die Isolierung der Fäkalstreptokokken wurde ohne Zuhilfenahme irgendwelcher für Enterokokken in der Literatur angegebenen Eigenschaften vorgenommen. Auf diese Weise wurden also von vornherein alle im Stuhl gefundenen Streptokokken zu den Enterokokken gezählt. Wenn bei dieser Auswahl die für Enterokokken maßgebenden Eigenschaften nicht häufiger und einheitlicher gefunden wurden als bei den aus Milch gezüchteten Stämmen, so erscheinen die daraus gezogenen Folgerungen meines Erachtens nicht berechtigt zu sein.

Beck und *Braun*[21]) (ebenso *Großmann*[22]) bezeichnen die Enterokokken als „Degradationsformen" *(Reimann)*, zu denen die verschiedenen Streptokokken durch äußere Reize gelangen könnten. Nach den Angaben dieser Autoren gelang es, durch Züchtung in alkalischer Bouillon und besonders in Urin, hämolytische und Viridansstreptokokken sowie Pneumokokken in typische Enterokokken umzuwandeln und typische Enterokokken in saurer Bouillon der charakteristischen Merkmale verlustig zu machen. *Meyer*[23]) konnte diese Angaben nach eigenen Untersuchungen in dieser Richtung nicht bestätigen.

In neuester Zeit glauben *Ehrismann*[24]) und seine Mitarbeiter den Nachweis zu erbringen, daß die Enterokokken überhaupt kein faßbarer Typ seien. „Enterokokken lassen sich weder im Sinne einer streng umschriebenen Bakterienart, noch eines eindeutig definierbaren Typus aus der Gesamtheit der im Magen-Darmkanal vorkommenden Streptokokken differentialdiagnostisch abgrenzen."

Auch darüber, ob und inwieweit den Enterokokken eine pathogene Bedeutung zukommt, sind, wie bereits angedeutet, die Auffassungen der einzelnen Autoren unterschiedlich. Während die einen ihn für einen harmlosen Darmsaprophyten halten und ihm eine ätiologische Bedeutung in der Darmpathologie und für die Infektion der Harnwege absprechen, (u. a. *Went*[25]), soll er neben den Angaben der französischen Literatur nach *Schmitz*[9]), *Meyer*[15]), *Löwenberg*[26]) u. a. bei Infektionen des Darmtraktus, des uropoetischen Systems und besonders der Gallenwege als Erreger in Frage kommen. *Gundel* hält

die Enterokokken für eine für Menschen bedingt pathogene Variante der Milchstreptokokken, die durch Standortwechsel ihr Verhalten geändert haben.

Da die Frage der Enterokokken im wesentlichen vom Standpunkt der menschlichen Pathologie aus bearbeitet ist, liegen Untersuchungen über ihr Vorkommen in der Umwelt, abgesehen von der Milch, nicht vor.

c) Aus den Erörterungen der vorhergehenden Abschnitte ist zu ersehen, daß in der Systematik der Streptokokken noch mancherlei ungeklärte Fragen zu lösen sind. Im besonderen ist die Stellung der Enterokokken nicht eindeutig festgelegt und allseitig anerkannt. Eine Abgrenzung dieser Art von den übrigen Streptokokken kann in einzelnen Fällen auf Schwierigkeiten stoßen. Nach den Autoren, die eine Abtrennung für möglich halten, kommen folgende differentialdiagnostische Merkmale in Betracht:

1. Morphologisch treten die Enterokokken in typischen Fällen als grampositive Diplokokken oder kurze Ketten auf. Sie zeichnen sich durch besondere Polymorphie aus, die bei den verschiedenen Laboratoriumsnährböden wechselt. Differentialdiagnostisch ist daher das morphologische Bild kaum zu verwerten.

2. Große Bedeutung für die Abgrenzung kommt der Spaltung des Glykosids Aeskulin zu, die Enterokokken fast ausschließlich zeigen.

3. Von gleicher Wichtigkeit ist das Verhalten gegenüber Galle. In Galle-Peptoewasser zeigen Enterokokken üppiges Wachstum.

4. Zu verwerten ist ferner die Eigenschaft, Lackmus und andere Farbstoffe zu reduzieren, wenn auch der Ausfall dieser Reaktion gelegentlich unterschiedlich und weniger typisch sein kann.

5. Mannit wird in den meisten Fällen gespalten. Der Raffinose-Spaltung, die weniger regelmäßig auftritt, kann keine große Bedeutung zugemessen werden. Überhaupt scheint der Ausfall der

Zuckervergärung nicht unwesentlich von der Zusammensetzung der Nährböden beeinflußt zu werden.

6. Brauchbar zur Abgrenzung der Enterokokken ist ferner ihre Thermoresistenz (½stündiges Erhitzen auf 60°), die jedoch keine obligate Eigenschaft zu sein braucht. Als Ergänzungsmerkmal kann sie jedoch recht dienlich sein.

7. Typisch dagegen für die Enterokokken ist das diffuse Wachstum in Normalbouillon.

8. Nach dem Verhalten auf der Blutplatte, auf der Enterokokken meist in grau-weißen Kolonien wachsen, ist eine Unterscheidung von anderen Streptokokken-Arten meist möglich. Gelegentlich kann Hämolyse auftreten.

9. Weiterhin verflüssigen Enterokokken Gelatinenährböden in der Regel nicht.

10. Eine Differenzierung auf serologischem Wege ist zu wenig einheitlich und typisch, als daß ihr besondere Bedeutung zugemessen werden könnte.

11. Auch das Fehlen oder Vorhandensein von Tierpathogenität ist wenig nützlich, da diese durch äußere und innere Bedingungen von Mikro- und Makroorganismus beeinflußt werden kann.

Bei Zusammenfassung der einzelnen Merkmale lassen sich die Enterokokken von den wichtigsten Streptokokken-Arten in folgender Weise mehr oder weniger leicht abgrenzen:

Der Streptococcus hämolyticus zeichnet sich neben dem charakteristischen Wachstum auf der Blutplatte dem Enterococcus gegenüber u. a. dadurch aus, daß er Aeskulin- und Mannitspaltung nur ganz ausnahmsweise zeigt. Ferner wird Wachstum in Galle nur selten beobachtet.

Gegenüber dem Pneumococcus macht eine morphologische Unterscheidung Schwierigkeiten *(Gundel*[27]*, Meyer*[16]*)*. Charakteri-

stisch ist allerdings für den Pneumococcus die Bildung einer Kapsel. Auch nach dem Verhalten auf der Blutplatte ist eine sichere Abtrennung nicht möglich. Auf anderen festen Nährböden soll der Enterococcus stärker wachsen als der Pneumococcus. Ein sicheres Unterscheidungsmerkmal ist nach *Heim*[28]) das Verhalten in Lackmusmilch, in der der Pneumococcus keine reduzierende Eigenschaften aufweist, sondern im Gegensatz zu den Enterokokken von vorneherein eine Rotfärbung zeigt. Entscheidend ist ferner die Galle- und Optochinempfindlichkeit der Pneumokokken. In Bouillon wächst er mit weniger Trübung als der Enterococcus. Schließlich zeichnet sich der Pneumococcus noch durch Vergärung von Inulin aus.

Ohne wesentliche Schwierigkeiten läßt sich der Enterococcus nach *Meyer*[16]) ferner vom Str. viridans abtrennen, der dadurch gekennzeichnet ist, daß er thermolabiler und gewöhnlich galleempfindlich ist. Mannit und Aeskulin werden gewöhnlich nicht gespalten. In Bouillon wächst er bröcklich und zeigt morphologisch ausgesprochene Kettenbildung mit kugeligen Einzelkokken. Dieser Ansicht schließt sich auch *Gundel*[18]) an, wobei er allerdings unter Viridans-Streptokokken nur den Erreger der Endocarditis lenta versteht und diese scharf von den „vergrünenden" Streptokokken der Mundhöhle trennt, die nach seiner Auffassung von den Enterokokken nur schwer zu trennen sind.

Über die Beziehungen der Enterokokken zu den Milchsäurestreptokokken gehen die Auffassungen besonders in der deutschen Literatur sehr auseinander. Die meisten Autoren sind der Ansicht, daß die Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken auf Grund ihres morphologischen und biochemischen Verhaltens eng verwandt sind, daß sie aber abzutrennen seien und ihnen eine Sonderstellung zugesprochen werden müsse. Es sei aber auf die Erörterungen im vorigen Abschnitt verwiesen.

d) Das Studium der Milchsäurebakterien ist von Gärungs- und Milchbakteriologen von völlig anderen Gesichtspunkten aus und auch mit meist stark abweichender Methodik betrieben worden. Von den hierher gehörigen Arbeiten sei allein auf die groß-

zügigen und grundlegenden Untersuchungen von *Orla-Jensen*[29]) hingewiesen. Zur Bearbeitung gelangten nicht nur in Milch und Fäkalien vorkommende Milchsäurebakterien, sondern auch solche, die auf Pflanzen und bei deren Verarbeitung gefunden wurden. *Orla-Jensen* stellt unter diesen 7 Gattungen mit rund 28 Unterarten auf. Obwohl dieser Autor wiederholt betont, daß die biologischen Stoffwechseleigenschaften für die Klassifizierung ein wichtigeres Merkmal zur Abgrenzung darstellen als die morphologischen Merkmale, so nimmt er doch zur Unterteilung der Familie der Milchsäurebakterien in Gattungen morphologische Merkmale weitgehend mit zu Hilfe. Für unsere Betrachtungen können zunächst die Gattungen Microbakterium und Tetracoccus unberücksichtigt bleiben, ferner die Milchsäurelangstäbchen der Gattungen Thermobakterium und Betabakterium.

Am naheliegendsten ist es, die den Enterokokken entsprechenden Arten unter dem Genus Streptococcus zu suchen. In erster Linie kommt hier der Sc. faecium in Betracht, der als häufigster Streptococcus in den menschlichen Faeces bezeichnet wird, aber auch bei Tieren weit verbreitet sein soll und ebenso an pflanzlichem Material nachgewiesen wurde. Es ist aber möglich, daß andere Streptokokken der Orla-Jensen'schen Einteilung, etwa der Sc. glycerinaceus oder inulinaceus bei einer Untersuchung mit den Methoden der medizinischen Bakteriologie als Enterococcus anzusprechen wäre.

Vom Genus Streptococcus trennt *Orla-Jensen* das Genus Betacoccus ab auf Grund stoffwechselphysiologischer Merkmale. Und zwar bilden die Streptokokken bei der Vergärung so gut wie ausschließlich Milchsäure, die Betakokken dagegen noch merkliche Mengen von Gas und anderen Nebenprodukten. Ferner ist die von ihnen gebildete Milchsäure meist Linksmilchsäure, im Gegensatz zu der von den Streptokokken gebildeten Rechtsmilchsäure. Der Fundort der Betakokken sind in erster Linie Rüben (daher auch der Name: beta = Beet = Rübe), aber auch anderes pflanzliches Material. Ein Teil der von *Orla-Jensen* untersuchten Stämme waren aus Sauerkraut isoliert. Bereits aus diesem Grunde werden die Betakokken mit bei der Untersuchung des Bact. acetylcholini zu berücksichtigen sein. Die

Betakokken entsprechen dem Streptococcus brassicae und dem Streptococcus mesenteroides anderer Systeme.

Wie die Streptokokken unter bestimmten Umständen (z. B. auf festen Nährböden) Stäbchenformen entwickeln können, so finden sich andererseits in dem System von *Orla-Jensen* unter den Stäbchenformen solche, bei denen die einzelnen Glieder so kurz sind, daß sie von Streptokokken nicht zu unterscheiden sind. (Vergl. z. B. die Abbildungen Pl. XXXVII, Nr. 9 und XLV, Nr. 44 bei Orla Jensen). Derartige Formen gehören in das Genus Streptobacterium, bei dem zwei Hauptarten unterschieden werden, das Sb. casei und das Sb. plantarum (das im allgemeinen durch die Bildung inaktiver Milchsäure gekennzeichnet ist). Das letztere, das stets in der Säuerung ausgesetztem pflanzlichen Material, aber auch in Milch gefunden wird, muß mit in den Kreis derjenigen Bakterien gezogen werden, unter denen sich Acetylcholinbildner finden könnten. In der medizinischen Bakteriologie, z. B. in der Nomenklatur von *Lehmann-Neumann*, finden sich keine den Streptobakterien entsprechenden Arten. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß sie entweder als Milchsäurelangstäbchen (Plocamobakterien) oder eher noch als Angehörige der Milchsäurestreptokokken-Enterokokken-Gruppe angesehen würden, wenn sie nach einem derartigen System zur Untersuchung kämen.

Schon diese kurze Übersicht zeigt, daß die verschiedenen bakteriologischen Systeme kaum miteinander vergleichbar sind. Während bei *Orla-Jensen* sich zahlreiche möglichst gut charakterisierte Arten nebeneinanderfinden, hat in der medizinischen Bakteriologie dieses Gebietes in der letzten Zeit die Neigung vorgeherrscht, die Übergänge zu betonen. So charakterisiert ja z. B. *Gundel* die ganze Gruppe der hierher gehörigen Streptokokken als Gruppe der labilen Stämme. In einem ähnlichen Sinn fassen wir auch den Namen „Enterokokken" als einen Trivialnamen für eine Sammelgruppe auf, in der sich vielleicht verschiedene Arten des Systems von *Orla-Jensen* finden könnten, oder die sich sogar mit seinen Arten überschneidet, indem sie nur einen Teil solcher Stämme umfaßt, die in seinem System zu einer bestimmten Art gehören.

III.

Meine eigenen Untersuchungen gehen von folgender Fragestellung aus:

1. Verhalten sich die verschiedenen Stämme des Bact. acetylcholini im Hinblick auf die in der medizinischen Bakteriologie üblichen Differentialnährböden einheitlich?

2. Wie sind diese Stämme in das System der Streptokokken bezw. der Milchsäurebakterien einzuordnen?

Die Stämme wurden mir zum größeren Teil von Prof. *Eichholtz* überlassen, der sie teils aus Gurken, Bohnen und Sauerkraut, teils aus Silagen isolierte. Zwei weitere Stämme waren durch *Thoma* aus dem Dünndarm einer weißen Ratte bzw. aus kariösem Zahn, zwei durch Prof. *Habs* aus menschlichem Kot gezüchtet.

Herkunft der untersuchten Stämme

Stamm Nr.	Material	Fabrikat
1	Sauerkraut	Vaihingen und Fidler
2	Gurken	Haas, Mannheim
3	Sauerkraut	Echterdingen
4	Bohnen	Handschuhsheim
5	Gurken	Handschuhsheim
6	Bohnen	Wieblingen
7	Bohnen	Schreiber, Mannheim
8	Sauerkraut	
9	Gurken	
10	Gurken	Echterdingen
11	Sauerkraut	Wecker, Heilbronn
12	Sauerkraut	Handschuhsheim
13	Sauerkraut	Stecher
14	Bohnen	Stecher
15	Rübenschnitzel	Büttnerwerke, Ürdingen
16	Kariöser Zahn	Thoma
17	Dünndarm von weißer Ratte	
18	Mischsilage	Pharmakol. Institut 10 S
19	Stuhl (Mensch)	Habs
20	Stuhl (Mensch)	

Alle verwendeten 20 Stämme waren vor der Untersuchung auf Acetylcholinbildung geprüft worden. Zu diesem Zwecke wurden die Stämme in sterilen Gurkensaft überimpft. Nach fünf Tagen ließen wir 0,5 ccm von dem bakterienhaltigen Gurkensaft auf einen in Thyrodelösung lebenden Rattendarm einwirken. Die Veränderungen wurden am Kymographion beobachtet. Dabei ergab sich, daß alle 20 Stämme Acetylcholin gebildet hatten.

A. Morphologie.

Morphologisch waren die von uns untersuchten Stämme verschieden gestaltet. Neben Einzelformen fanden sich vorwiegend Diplokokken. Dabei war das Aussehen der einzelnen Keime wiederum verschieden. Teils waren es mehr oder weniger zarte, runde Diplokokken, teils ovale bis kurzstäbchenförmige Paare. Bei den Stäbchen waren die Ecken abgerundet. Auch die Breite war geringen Schwankungen unterworfen. Bei einzelnen Stämmen kamen innerhalb derselben Kultur Übergänge von runden Kokken zu Stäbchen verschiedener Länge vor. In flüssigen Nährböden wurden öfters Ketten mit meist 3—5 Gliedern gebildet. Dabei kamen innerhalb einer Kette Glieder verschiedener Länge zur Entwicklung. Ich hatte den Eindruck, daß beim Übergang von festem in flüssigen Nährboden mehrfach die Tendenz bestand, aus runderen Formen Stäbchen zu bilden.

Im „hängenden Tropfen" waren die Kulturen unbeweglich. Der Gramfärbung gegenüber verhielten sich die von uns untersuchten Stämme positiv.

B. Wachstum in flüssigen Nährböden.

a) Die Prüfung in flüssigen Nährböden wurde zunächst in normaler Nährbouillon (ph 7,4—7,5) vorgenommen. Während ein Teil schon nach 24 Stunden Wachstum zeigte, brauchten die restlichen Stämme 48 Stunden. Aus diesem Grunde wurden alle Stämme einheitlich erst nach 48 Stunden beobachtet. Nach dieser Zeit zeigten alle Kulturen eine diffuse, je nach der Wachstumsintensität mehr oder weniger starke Trübung mit Bildung von Bodensatz, der sich beim Schütteln zusammenhängend und meist fadenbildend vom Boden erhob. Stamm 19 wuchs besonders kräftig, während Stamm 7 langsamer als die übrigen gedieh. Nach 6—8 Tagen setzte Klärung der Bouillon ein.

b) Weiterhin brachten wir die Bakterien einmal in neutralisierte Normalbouillon mit einem ph-Wert von 7,3 und gleichzeitig in natur-saure Bouillon mit einem ph-Wert von 6,2. Dabei war das Wachstum in neutralisierter Bouillon eher etwas besser.

c) In Leberbouillon (Normalbouillon + Leberstückchen) zeigte sich bereits nach 24 Stunden ein starkes, gleichmäßiges Wachstum.

d) Aus den Untersuchungen von *Eichholtz, Keil* und Mitarbeitern war bereits bekannt, daß das Bact. acetylcholini unter anaeroben Verhältnissen ein gutes Wachstum in Gurkensaft zeigt. Um festzustellen, ob auch in den Fleischwassernährböden ein Wachstum unter anaeroben Bedingungen leichter erfolgt, überschichteten wir in Bouillon eine Serie von Stämmen mit 1½ ccm sterilem Paraffinöl und ließen eine Kontrollserie derselben Stämme in gewöhnlicher Bouillon wachsen. In beiden Fällen verhielten sich die entsprechenden Stämme gleich.

e) Bezüglich der Temperatur sind zum Wachstum ziemlich weite Grenzen möglich. Wir nahmen einen Teil unserer Untersuchungen gleichzeitig bei einer Temperatur von 37° und 22° vor. Dabei fanden wir, daß auch bei 22° gutes Wachstum vorhanden ist, allerdings war eine entsprechend längere Zeit notwendig.

C. Wachstum auf festen Nährböden.

Zur weiteren Untersuchung überimpften wir die Stämme aus Gurkensaft-Reinkulturen auf Blutagarplatten (Nähr-Agar + 10% defibriniertes Rinderblut). Auch dabei waren zum Wachstum 48 Stunden notwendig. — Das Aussehen der einzelnen Kulturen war einheitlich. Alle Stämme zeigten mehr oder weniger grau-weiße Eigenfarbe. Die einzelnen Kolonien waren ziemlich zart und besaßen einen Durchmesser von durchschnittlich 0,3—0,75 mm. Stamm 19 zeichnete sich jedoch durch etwas größere und flachere Koloniebildung aus. Nach zwei Tagen war bei keinem der Stämme Hämolyse oder Vergrünung in der Umgebung der Kolonie festzustellen. Bei der Betrachtung unter dem Plattenmikroskop zeigten alle Kolonien ohne wesentliche Abweichungen runde, kegelförmige Gestalt mit glattem Rand. Die Oberfläche war spiegelnd, glatt und zeigte nur bei einigen Stämmen eine ganz feine Granulierung.

Gleiches Verhalten stellten wir auf Agarplatten (Fleischwasser + 3% Agar) fest. Bei durchfallendem Licht erschienen die Kolonien hellblau.

D. Wachstumsintensität.

Aus den bisher beschriebenen Kulturversuchen geht hervor, daß die Wachstumsintensität der einzelnen Stämme in den Nährböden, deren Grundlage Fleischwasser und Pepton ist, recht verschieden sein kann. Am schnellsten geht das Wachstum bei den Stämmen aus menschlichem Stuhl an, während verschiedene der Silagestämme eine längere Entwicklungszeit benötigen. Diese Wachstumsverhältnisse sind bei der Prüfung der biochemischen Eigenschaften der Stämme zu berücksichtigen. Es mußte deshalb in den folgenden Untersuchungen zum Teil eine längere Bebrütungszeit gewählt werden, als sie sonst üblich ist.

E. Fermentative Eigenschaften.

a) Zur Prüfung der Kohlehydratvergärung benutzten wir zunächst Normalbouillon mit 1%igem Milch- und Traubenzucker. In diesen Nährböden zeigte sich schon nach 24 Stunden starke Trübung. In der Traubenzuckerbouillon schien das Wachstum stärker zu sein. Die Säurebildung stellten wir mit Bromthymolblau als Indikator fest, dessen Umschlagspunkt in Gelb bei einem ph-Wert zwischen 7,0 und 6,0 liegt. Zur genauen Festlegung des Säuerungsgrades wurde der ph-Wert elektrometrisch bestimmt. Er lag durchschnittlich um 5,0.

Zur Mannit- und Raffinose-Spaltung wurden diese Kohlehydrate ebenfalls 1%ig der Normalbouillon zugegeben. Auch hier benutzten wir als Indikator Bromthymolblau. Mannit spalteten alle Stämme; Raffinose 35%.

b) In Aeskulinbouillon (Normalbouillon + 0,1 g Aeskulin) wurde nach 48 Stunden die Reaktion mit Eisenzitrat vorgenommen. Überall trat Schwärzung der Bouillon ein, d. h. sämtliche Stämme spalteten Aeskulin.

c) Weiterhin wurde von den einzelnen Stämmen ein Gelatinestich angefertigt. Dabei ließen sich nach zwei Wochen keine Anzeichen für Verflüssigung erkennen. Die Keime wuchsen in knöpfchenförmigen Einzelkolonien und waren von der Umgebung scharf abgegrenzt.

d) Um die reduzierenden Fähigkeiten unserer Stämme festzustellen verwandten wir Lackmusmilch (Vollmilch + 7% Lackmustinktur). Auch dabei verhielten sich alle Stämme einheitlich. Entsprechend dem verschiedenen Wachstum zeigte sich bei dem größeren Teil bereits nach 24 Stunden ein Umschlag in weiß, die langsamer wachsenden Stämme entfärbten sich erst nach 48 Stunden. Meist wurde der Nährboden gleichmäßig entfärbt, teilweise jedoch auch im oberen Teil beginnend. Alle Stämme brachten innerhalb von 2—5 Tagen die Milch zur Gerinnung, die bei einem Teil starr, bei anderen mehr dünnbreiig war. Nach weiteren Tagen verfärbte sich der obere Saum des Nährbodens rosa. Später bildete sich bei den meisten Stämmen in ¼ bis ½ der Höhe klare oder leicht rosa verfärbte Molke. Stamm 4 und 19 waren bereits nach 6 Stunden vollständig entfärbt; Stamm 19 dabei auch schon starr geronnen. Stamm 17 zeichnete sich dadurch aus, daß gleich nach der früh einsetzenden Entfärbung mit der Gerinnung eine gleichmäßige leichte Rötung auftrat.

F. Galleempfindlichkeit.

Um die Galleempfindlichkeit der Stämme zu prüfen, benutzten wir zunächst den für Typhusdiagnostik verwandten Gallenährboden, der sich aus ⅓ Bouillon und ⅔ Rindergalle zusammensetzte. Bis auf den Stamm 19, der anfänglich geringes Wachstum zeigte, wuchsen die übrigen Stämme nicht an. In einem zweiten Versuch wurde der von *Weißenbach* angegebene und von *K. Meyer* etwas veränderte Nährboden verwandt. (80 Teile 4%iges Peptowasser + 20 Teile Galle + 0,4% Glukose). In diesem Nährboden zeigten alle Stämme starkes Wachstum unter Bildung von reichlichem Bodensatz.

Ferner untersuchten wir die Beeinflussung durch gallensaure Salze. Zu diesem Zwecke impften wir von Agarplattenkulturen in

eine 10%ige Natriumtaurochol.-Lösung (nach *Kwasniewski* u. *Henning*[30])). Es wurde vor und nach Bebrütung von 4 Stunden im hängenden Tropfen beobachtet, ohne irgendwelche Veränderungen an den Keimen feststellen zu können.

G. Thermoresistenz.

Die Thermoresistenz wurde geprüft, indem wir 48stündige Bouillonkulturen einmal ½ Stunde in ein Wasserbad von 55° brachten, in einem zweiten Versuch ½ Stunde auf 60° erhitzten. Anschließend impften wir je 5 Ösen Material in Leberbouillon, die uns zum Anwachsen der Keime am geeignetsten erschien. Die Ablesung erfolgte nach sieben Tagen. Vor dem Erhitzen und Überimpfen in Leberbouillon wurden die Reagensgläser bis an den Rand der Nährlösung abgeglüht, um etwa an der Glaswand eingetrocknete und im Wasserbade nicht erhitzte Keime abzutöten. Von den 20 Stämmen überstanden eine Erhitzung auf 60° nur vier (2, 7, 10, 19). Bei 55° wurden alle Stämme bis auf sechs abgetötet (2, 7, 10, 13, 17, 19).

H. Serologische Differenzierung.

Auf eine serologische Differenzierung unserer Stämme konnte im Rahmen dieser Untersuchung verzichtet werden, da ihr für die Systematik der Streptokokken keine wesentliche Bedeutung zukommt.

J. Spontanagglutination.

Um einen Eindruck zu gewinnen, ob die Stämme in einer bestimmten „Phase" vorliegen, untersuchten wir sie lediglich mit 0,2%iger Trypaflavinlösung auf Spontanagglutination. Mit einer Ausnahme agglutinierten alle Stämme mehr oder weniger stark. Ob es sich dabei um Veränderungen im Sinne der S-R-Form handelt, müßte durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

K. Tierpathogenität.

Die Tierpathogenität prüften wir in der Weise, daß wir je 0,5 ccm einer 48stündigen Bouillonkultur weißen Mäusen intraperitoneal in-

jizierten. Nach zwölf Tagen ließen sich bei keinem Tier weder an der Einstichstelle noch im Allgemeinbefinden irgendwelche Veränderungen feststellen.

L. Acetylcholinbildung.

Nach dem Abschluß der Versuche prüften wir alle Stämme nochmals auf Acetylcholinbildung. Dabei ergab sich, daß mit einer Ausnahme alle Stämme, wenn auch zum Teil erst bei Wiederholung der Versuche, Acetylcholin gebildet hatten. Es ist anzunehmen, daß die Acetylcholinbildung durch verschiedene äußere Bedingungen beeinflußt werden kann, die im einzelnen noch nicht bekannt sind. U. a. wurde, wie schon in früheren Untersuchungen des Pharmakologischen Institutes beobachtet, festgestellt, daß bei einer Temperatur von 37° im allgemeinen keine Bildung von Acetylcholin erfolgt. Es ist daher nötig, die Gurkensaftkulturen bei Zimmertemperatur wachsen zu lassen. Ferner wurde gefunden, daß in stark alkalischem Milieu ebenfalls die Acetylcholinbildung unterbleiben kann. — Es wird im Verlauf der weiteren Untersuchungen über das Bact. acetylcholini festzustellen sein, ob durch Züchtung auf verschiedenen Nährböden ein dauernder Verlust der Acetylcholinbildung erfolgen kann.

IV.

Ergebnis der Untersuchungen.

Vergleicht man eine Anzahl der untersuchten acetylcholinbildenden Stämme lediglich nach dem morphologischen Verhalten, so erhält man zunächst den Eindruck einer gewissen Vielgestaltigkeit, da neben typischen Kokken-, insbesondere Diplokokkenformen auch ausgesprochene Stäbchenformen zur Beobachtung kommen. Die weitere Beobachtung zeigt aber, daß auch bei den einzelnen Stämmen, ja bei einer aus einem Keim entstandenen Bakterienkette vielfältige Bakterienformen vom Kokkus bis zum Stäbchen vorhanden sein können.

Es ist dies also das Bild, das geradezu als Kennzeichen der sogenannten pleomorphen Streptokokken angesehen werden kann und keineswegs gegen eine Einheitlichkeit der geprüften Stämme spricht.

Diese Einheitlichkeit kommt in dem kulturellen Verhalten der Stämme zum Ausdruck. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Vermehrungsintensität verschiedener Stämme verschieden groß ist. Diese Erscheinung ist vor allem darauf zurückzuführen, daß die verwendeten Nährböden als Grundlage Fleischwasser und Pepton besitzen, daß diese Medien aber nicht den natürlichen Bedingungen der aus Silage gezüchteten Stämme entsprechen, während sie den aus Darminhalt gezüchteten Stämmen zusagen. Es ist deshalb bei allen Vergärungsversuchen zu berücksichtigen, daß die Zeit des Anwachsens und damit auch der Zeitpunkt des Reaktionsumschlages verschieden sein kann, oder, daß bei zu geringer Einsaat ein Wachstum ausbleibt und dadurch ein negativer Ausfall der Reaktion vorgetäuscht wird. Vielleicht ist derart das uneinheitliche Verhalten in Raffinose zu erklären.

In allen für die Differenzierung der Streptokokken wesentlichen Nährböden verhielten sich die Stämme einheitlich, insbesondere in Galle, Aeskulinbouillon und Lackmusmilch. Ebenso zeigten sich keine Unterschiede in der Wuchsform auf festen und flüssigen Nährböden zwischen den einzelnen Stämmen. Die Tatsache, daß bei der Prüfung der Thermoresistenz keine völlige Einheitlichkeit festgestellt wurde, erscheint nicht wesentlich, wenn man bedenkt, daß der gewählte, in der Literatur übliche Temperaturgrad willkürlich ist und daß eine weitere Abstufung des Temperatur- und Zeitintervalls eine für alle Stämme geltende Abtötungsstufe hätte feststellen können.

Unsere Untersuchungen haben also das Ergebnis, daß die Stämme als zu einer einheitlichen Art gehörig aufgefaßt werden können. Irgendwelche Unterschiede bestehen zwischen den Silage- und den Darmstämmen auf den Differentialnährböden nicht. In gesonderten Untersuchungen des Pharmakologischen Institutes wird festgestellt werden, ob sich diese Einheitlichkeit auch auf die für den Silagevorgang wesentlichen physiologischen Eigenschaften erstreckt.

Nach Morphologie und der wesentlichsten biologischen Eigenschaft, der Milchsäurebildung, ist das Bact. acetylcholini in die große Gruppe der Milchsäurestreptokokken einzureihen.

Wie aus dem früher Gesagten hervorgeht, ermöglichen es unsere Untersuchungen nicht, eine Einreihung in die Systematik von *Orla-Jensen* vorzunehmen. Immerhin läßt sich folgendes feststellen:

Die Möglichkeit, daß das Bacterium acetylcholini den Betakokken zuzuordnen wäre, kann ausgeschaltet werden, da aus den Untersuchungen des Pharmakologischen Instituts bereits bekannt ist, daß das Bacterium acetylcholini eine fast homofermentative Milchsäuregärung veranlaßt und nur Spuren von Nebenprodukten bildet, und da andererseits aus einer Bemerkung bei *Orla-Jensen* hervorgeht, daß den Betakokken reduzierende Eigenschaften fehlen sollten. Am naheliegendsten erscheint die Identifizierung mit dem Streptococcus faecium Immerhin würden Bedenken bestehen auf Grund der geringen Thermoresistenz des Bacteriums acetylcholini sowie der Morphologie, da der Streptococcus faecium fast stets in deutlichen Kokkenformen auftritt. Allerdings gleicht die Abbildung von Pl. XV Nr. 6 bei *Orla-Jensen* den Bildern, die wir häufig gesehen haben. Es ist nicht ganz von der Hand zu weisen, daß das Bacterium acetylcholini nicht in die Gruppe der Streptokokken, sondern in die der Streptobakterien *Orla-Jensens* einzuordnen wäre, dagegen spricht allerdings die Tatsache, daß unsere Stämme recht gut auf Agarnährböden gewachsen sind, während *Orla-Jensen* angibt, daß die Streptobakterien wesentlich schlechter auf Gelatineplatten wachsen als die Streptokokken. Ferner entsprechen die Formen, die wir mikroskopisch sahen, niemals den langen, aus deutlichen Stäbchen geformten Ketten, die bei den Streptobakterien immer wieder gefunden worden sind. — Eine Entscheidung wird nur eine Untersuchung erbringen können, die nach der Methodik von *Orla-Jensen* durchgeführt wird.

Ein Versuch der Einordnung in eins der in der medizinischen Bakteriologie aufgestellten Streptokokkensysteme ergibt, daß das Bact. acetylcholini den sogenannten Enterokokken nahesteht. Es

zeigt in seinem Verhalten auf Blutplatten, in Bouillon, in Lackmusmilch und in Galle, vor allem aber in der Aeskulinbouillon die Merkmale, mit denen die Enterokokken von den Milchsäurestreptokokken im engeren Sinn und den übrigen pleomorphen Streptokokken abgegrenzt werden. Abweichend von dem Typenzentrum der Enterokokken ist lediglich das Fehlen der Thermoresistenz.

Damit zeigen die geprüften Stämme des Bact. acetylcholini unter sich eine größere Einheitlichkeit, als sie von anderen Autoren bei der Untersuchung von wahllos aus verschiedenem Material gezüchteten sogenannten Enterokokken gefunden wurden. Das Bact. acetylcholini ist bereits aus diesem Grunde nicht mit dem Enterococcus in der üblichen Definition zu identifizieren, sondern kann höchstens als eine Unterform dieser Streptokokkengruppe aufgefaßt werden. Dies entspricht auch der Tatsache, daß nur ein kleiner Teil von aus menschlichem Kot gezüchteten, nach ihrem Verhalten auf den Differentialnährböden als Enterokokken zu bezeichnenden Stämme bei der Züchtung in Gurkensaft Acetylcholin bildet.

Ob das Bact. acetylcholini als besonderer „Typ" aufgefaßt werden kann, also als eine Unterart mit fixierten Eigenschaften, oder ob es sich um eine „Standortmodifikation" handelt, also um eine unter besonderen Umweltbedingungen aus anderen Streptokokkenformen sich entwickelnde Variationsform, muß in besonderen Versuchsreihen untersucht werden.

Zusammenfassung.

Es wurden 20 Stämme des Bact. acetylcholini auf ihr Verhalten in verschiedenen differentialdiagnostischen Nährböden geprüft. Diese Prüfung ergab eine Übereinstimmung in allen wesentlichen Eigenschaften. Unterschiede zwischen Stämmen, die aus Silage und solchen, die aus Darminhalt gezüchtet waren, konnten nicht nachgewiesen werden. Das Bact. acetylcholini gehört zu den Milchsäurestreptokokken im weiteren Sinne und stellt eine gut abgrenzbare Form dar, die wesentliche Beziehungen zu den sogenannten Enterokokken besitzt.

Die Untersuchungen wurden im Sommer 1936 auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Habs durchgeführt, dem ich für seine Unterstützung danke.

Literaturverzeichnis.

1. Eicholtz, F. u. Keil, W.: Chemikerzeitung Bd. 59 (1935), S. 1033.
2. Eichholtz, F. u. Brehm, K. H.: Sitzungsberichte der Heidelberger Akad. der Wissenschaften (1935) 9. Abhandl.
3. Andrewes u. Horder: Lanzet (1906) Vol. II p. 708.
4. Warren Crowe: Differentation of Streptococci. J. of Path. 24, 361 (1921).
5. Grumbach: Erg. der Hyg. Bd. 15.
6. Escherisch: Die Darmkrankheiten des Säuglings, Stuttgart (1886).
7. Thiercelin: Compt. Rend. Soc. de Biol. 51 (1899).
8. Macaigne: Nouveau traité de médicine Fsc. I (1926).
9. Schmitz, H.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. 1 Orig. B 67 (1913) und Band 96 (1925).
10. Houston u. Mc. Cloy: Lancet (1916) Vol. II p. 632.
11. Weißenbach, R. J.: Compt. Rend. Soc. Biol. T 81 (1918).
12. Rochaix, A.: Compt. Rend. Soc. Biol. T. 90 (1924) p. 771.
13. Harrison u. Vanderleck: Zentralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 22 (1908) 547.
14. Dible, J. H.: A. System of Bakteriology. Vol. II (1929).
15. Meyer, Kurt: Klin. Wochenschr. (1924) S. 2291.
16. Meyer, K. u. Schönfeld, H.: Zentralbl. Bakt. Abt. 1 Orig. Bd. 99 (1926).
17. Bagger, S. V.: Undersogelser over Enterococcer, Kopenhagen (1925).
18. Gundel, M.: Zentralbl. Abt. 1 Orig. Bd. 115 (1930) u. 118 (1930).
19. Gundel, M., Typenlehre in der Mikrobiologie. Jena (1934).
20. Demeter: Milchwirtsch. Forsch. 8., 201 (1929).
21. Beck u. Braun: Zentralbl. Bakt. Abt. 1 Orig. Bd. 127, 132 (1933).
22. Großmann: Zentralbl. Bakt. 132 (1934).
23. Meyer, K.: Zentralbl. Bakt. 129, 109 (1933).
24. Ehrismann, O., Hartmann, Seefried u. Wiechert: Z. f. Hyg. u. Inf.-Krkh. Bd. 117, Heft. 3.
25. Went, St.: Zentralbl. Bakt. 100, S. 62 (1925).
26. Löwenberg: Zentralbl. Bakt. 102, 245 (1927).
27. Gundel, M.: Zentralbl. Bakt. 109, 384 (1928) u. 115 (1930).
28. Heim, L.: Z. Hyg. 101, 104 (1924).
29. Orla-Jensen: The lactis acid bakteria, Kopenhagen (1919).
30. Kwasniewski u. Henning: Klin. Wochenschr. (1926) S. 1870.

Lebenslauf.

Am 7. Juli 1912 wurde ich in Essen als Sohn des städtischen Verwaltungsdirektors Wilhelm Behr geboren. Von meinem sechsten Lebensjahre ab besuchte ich zunächst vier Jahre lang die Volksschule. Nach anschließendem dreijährigen Besuch der Mittelschule und sechsjährigem Besuch des Helmholtz-Realgymnasiums in Essen erlangte ich dort 1931 das Reifezeugnis.

Im Sommer 1931 begann ich an der Universität Heidelberg mein medizinisches Studium. Nach weiteren vier Semestern in Marburg bestand ich dort im März 1934 die ärztliche Vorprüfung.

In meinem ersten klinischen Semester belegte ich in der Grenzland-Universität Königsberg; zwei weitere Semester studierte ich sodann in Berlin. Für meine drei letzten klinischen Semester wählte ich als Studienort Heidelberg, wo ich im Juni 1937 das Medizinische Staatsexamen ablegte und gleichzeitig promovierte.

Als Medizinalpraktikant war ich sieben Monate lang am „German Hospital" in London und fünf Monate lang an den Städtischen Krankenanstalten in Remscheid tätig.